



Deletion of the selenocysteine tRNA gene results in compensatory gene induction of cytoprotective enzymes by the Nrf2 transcription factor

著者	鈴木 隆史
内容記述	"2006" Thesis (Ph. D. in Medical Sciences)--University of Tsukuba, (A), no. 4415, 2007.3.23 Accompanied by 5 subarticles; 1 in Japanese Includes bibliographical references
発行年	2007
その他のタイトル	Selenocysteine tRNA遺伝子欠失による転写因子 Nrf2の代償的生体防御遺伝子群の誘導機構
URL	http://hdl.handle.net/2241/91561

氏 名（本籍）	鈴 ^{すず} 木 ^き 隆 ^{たか} 史 ^{ふみ} （愛知県）		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博 甲 第 4415 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Deletion of the Selenocysteine tRNA Gene Results in Compensatory Gene Induction of Cytoprotective Enzymes by the Nrf2 Transcription Factor (Selenocysteine tRNA 遺伝子欠失による転写因子 Nrf2 の代償的生体防御遺伝子群の誘導機構)		
主 査	筑波大学教授	理学博士	石 井 哲 郎
副 査	筑波大学助教授	博士（医学）	川 内 康 弘
副 査	筑波大学講師	医学博士	石 井 幸 雄
副 査	筑波大学講師	博士（農学）	藤 栄 治

論文の内容の要旨

目 的：

セレン (Se) 欠乏状態では、Se 含有グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx) や、チオレドキシン還元酵素などの発現が低下して、酸化ストレスによる様々な病態が招来されるが、Se 非含有グルタチオン S 転移酵素 (GST) やキノンレダクターゼ (NQO1) など抗酸化タンパク質や異物代謝酵素の誘導がおきる。転写因子 Nrf2 が、この代償機構を制御している可能性を検証するために、Se タンパク質合成に必須な SeCys-tRNA の遺伝子を破壊したマウスを作成したが胎生致死であり、Nrf2 による代償機構を検証できなかった。そこで、本研究では、成体になるマクロファージあるいは肝細胞特異的 SeCys-tRNA 遺伝子欠乏マウスを作製し、Nrf2 による代償機構を検討するとともに、恒常性維持における両方の防御システムの重要性を遺伝学的に明らかにすることを目的とした。

対象と方法：

胎生致死を回避して成体において SeCys-tRNA 遺伝子を破壊するために、Cre-loxP システムを用いた条件付き遺伝子破壊マウスを利用した。すなわち、マクロファージ特異的に発現する遺伝子 (M lysozyme) 部位に Cre リコンビナーゼを挿入した LysMCre マウスと肝細胞特異的に発現するアルブミン遺伝子のエンハンサーとプロモーターを利用した Cre リコンビナーゼトランスジェニック (AlbCre) マウスを利用した。

結 果：

LysMCre を用いた SeCys-tRNA 遺伝子破壊マウスから渗出性腹腔マクロファージを採取し培養した。このマクロファージでは、GPx1 タンパク質が減少しており、Se タンパク質合成が抑制されていることを確認した。さらに、酸化ストレスの亢進、Nrf2 タンパク質の核内蓄積、Nrf2 標的遺伝子として知られている

GST や NQO1 などの生体防御遺伝子の発現誘導を見出した。さらに、Nrf2 遺伝子破壊マウスとの交配によりダブルノックアウトマウスを作製し、マクロファージを調べると、この生体防御遺伝子群の発現誘導は見られないことから、この生体防御遺伝子群の誘導は Nrf2 に依存することが明らかになった。このダブルノックアウトマクロファージでは、酸化ストレスの顕著な亢進が観察され、一部アポトーシスを起こしていることがわかった。

AlbCre を用いた SeCys-tRNA 遺伝子破壊マウスの肝臓でも、GPx1 タンパク質が減少し、Se タンパク質合成が低下していることが確認された。この肝組織においても、Nrf2 の核蓄積および NQO1 などの生体防御遺伝子の誘導が観察された。Nrf2 遺伝子破壊マウスとのダブルノックアウトマウスではこの生体防御遺伝子の誘導は見られなかった。また、このダブルノックアウトマウスは、肝障害の指標である ALT の血清中の値が顕著に上昇し、7 週以内に全頭死亡した。このマウスの肝臓組織では、重篤な肝障害が起きており TUNEL 陽性のアポトーシス細胞が多く観察された。

考 察：

Se タンパク質の多くは、非ストレス状態でも細胞内レドックスバランスを保つのに必須であり、構成的生体防御機構である。一方、Nrf2 はストレスに曝された時に活性化される誘導的な生体防御機構である。Se 欠乏時における Nrf2 の活性化と両酸化システムの重要性は、本研究において殺菌作用において自ら活性酸素種を産生するマクロファージとエネルギー産生の盛んな組織であり活性酸素の産生が多い肝臓において証明された。予防医学的観点から考えると、Se タンパク質合成の材料となる Se の適切な摂取と Nrf2 の活性化剤を適切に摂取すれば、両者の生体防御機構が増強され、酸化ストレスに起因する多くの疾患の予防に有用であると考えられる。

結 論：

遺伝学的手法により、成獣マウスのマクロファージおよび肝細胞における Se タンパク質合成欠損を創出することに成功した。このマウスの解析から、Se 欠乏症において観察されていた酸化酵素誘導の代償機構は、酸化ストレスにより活性化した Nrf2 によることを明らかにした。以上の解析から、Se タンパク質群と Nrf2 により制御される生体防御系は生体の恒常性維持にいずれも重要な役割を担っていることを証明した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、Se 欠乏状態における Nrf2 活性化の意義を証明するために、マクロファージと肝細胞において特異的に Se タンパク質合成能を欠失するマウスを遺伝学的手法を用いて作成し、それらマウスを丁寧に解析した成果である。SeCys-tRNA 遺伝子の特異的に破壊した腹腔マクロファージと肝臓では、酸化ストレスにより Nrf2 が活性化して GST や NQO1 などの生体防御遺伝子群の発現誘導が見られることから、Se タンパク質欠乏状態において代償的に Nrf2 が活性化することを証明した優れた研究である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。